ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI CATANIA
DIRETTORE PROF. E. DI MATTEI

Azione disinfettante del LYSOFORM denso sui microrganismi del colera e del tifo

NOTA PRELIMINARE

DEL

Prof. E. DI MATTEI

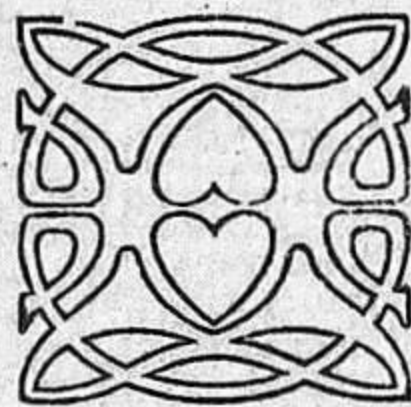
MILANO
TIPOGRAFIA FRATELLI LANZANI
Via Fiori Oscuri, 7

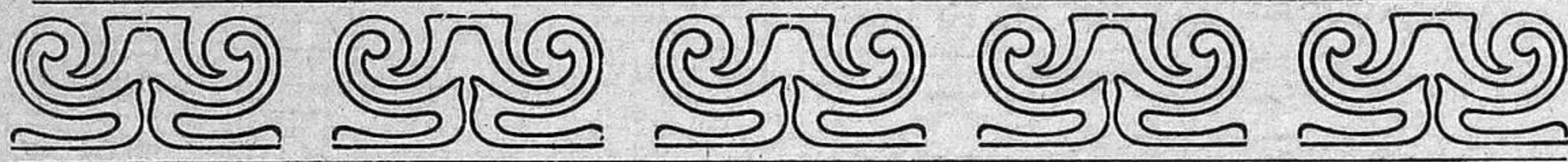
1911

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI CATANIA
DIRETTORE PROF. E. DI MATTEI

Azione disinfettante del LYSOFORM denso sui microrganismi del colera e del tifo

NOTA PRELIMINARE

DEL
Prof. E. DI MATTEI

MILANO
TIPOGRAFIA FRATELLI LANZANI
Via Fiori Oscuri, 7

1911

In quest'anno scolastico fra le ricerche di laboratorio ho data la preferenza allo studio del *Lysoform.* Le varie esperienze condotte sotto diverso indirizzo dai miei assistenti, non si sono potute condurre a fine, perchè la epidemia colerica dominante in questa stagione estivo-autunnale, ha un po' distratto l'attività degli studi intrapresi sul detto argomento.

Non è quì il caso di render noto il nostro piano di ricerche che doveva formare l'argomento di studio sul potere disinfettante del *Lysoform;* come non mi sembra neppure il momento di accennare alla già rilevante bibliografia italiana ed estera, che in poco tempo si è andata accumulando su questo preparato; inquantochè sarebbe necessario un lavoro di analisi e di critica su tutte le esperienze che si sono condotte e che hanno portato a risultati e giudizî non sempre concordi.

E molto invero vi sarebbe da dire in proposito, poichè scorrendo i numerosi lavori, pare che un certo senso di preoccupazione dominasse alcuni degli studiosi, tanto che pur venendo a risultati confortanti, le conclusioni poi che ne ricavano non sono del tutto coerenti. Come d'altro canto non si può mettere in dubbio che le diverse condizioni di tecnica e di esperimento non possono non influire su la diversità dei risultati stessi.

Riserbando al lavoro completo tutte le osservazioni circa i metodi adoperati, riferirò le esperienze fatte intorno alla

efficacia di questo nuovo disinfettante sui germi, di due importanti malattie infettive, quali il colera ed il tifo, per quanto fino ad oggi numerose sull' argomento ne siano state le ricerche intraprese.

Il *Lysoform* adoperato è quello denso o greggio e mi veniva fornito in scatole di latte da un chilogrammo dalla Ditta Achille Brioschi & C. di Milano.

Fu esperimentato altresì il *Lysoform denso*, in damigiane della stessa ditta di Milano, pervenutomi dalla Prefettura per fornitura della Direzione di Sanità. Con detto *Lysoform* si facevano le soluzioni alla percentuale che si intendeva esperimentare, e per tali soluzioni veniva sempre adoperata l'acqua distillata.

Non è quì il caso di occuparsi della composizione del *Lysoform denso,* già ben nota, sia per formola data dalla Ditta, sia perchè l'analisi quantitativa dei vari componenti, ripetutamente fatta, presso a poco corrisponde alla percentuale fornita; le poche variazioni che si sono riscontrate si riferiscono al *Lysoform* delle damigiame e riguardano una maggior quantità d'acqua e di formalina di fronte ad una diminuita proporzione di oleato potassico. Nè queste stesse variazioni si possono dire costanti, anche a giudicare dai diversi saggi che si facevano sopra campioni presi da diverse damigiane. Le soluzioni da me adoperate sono state al 3, al 5, ed al 10 $^{0}/_{0}$.

Il materiale di esperimento dei germi, veniva preparato nel modo seguente:

Da cultura in brodo di 24 ore di vibrione di colera, (germe isolato da feci di individuo coleroso, ed identificato con tutti i metodi speciali di cultura e sierodiagnosi) se ne prendeva una quantità sempre costante di $^{1}/_{10}$, $^{2}/_{10}$, $^{5}/_{10}$ di c. c. e si mescolava rispettivamente con 10 c. c. delle soluzioni di *Lysoform* a diverse percentuali, come si è accennato. Dopo un periodo di tempo stabilito, si prelevava di questo miscuglio con pipetta sterile, previa agitazione della provetta, che si aveva cura di agitare spesso, una quantità di $^{1}/_{10}$, $^{2}/_{10}$, $^{5}/_{10}$ di c. c. e si riportava in provetta contenente 10 c. c. di acqua distillata sterilizzata. Dopo agitazione ripetuta per ottenere un opportuno lavaggio dei germi, si prelevava di tal liquido una quan-

tità sempre costante di $^{5}/_{10}$ di c. c. e si seminava in brodo Duhnam e comparativamente in brodo semplice, e in agar metodo Esch.

E lo stesso processo veniva seguito per le prove col bacillo del tifo, del quale germe mi ero prima assicurato sulla provenienza e sulla identità, ricorrendo oltre alle altre prove culturali anche a quelle sierodiagnostiche. Debbo subito dire che in tali esperienze non solo mi sono servito di culture del mio laboratorio, ma altresì di altre culture provenienti dai laboratori di batteriologia di Napoli e d'Igiene di Palermo, dopo ben inteso previe ricerche di identificazione dei germi stessi.

Contemporaneamente a questa serie di osservazioni mi sono servito anche di materiale batterico prelevato da culture in agar, fresche di 24, 36 ore, avendo cura bensì di prelevarne sempre la stessa quantità con anse di platino apposite. Il materiale veniva diluito nella soluzione di *Lysoform*, e poi dopo il tempo di contatto stabilito, e con le cautele accennate si eseguivano tutti gli ulteriori passaggi.

In quanto al fissamento dei germi su elementi solidi: fili di seta, vetrini, lamelle di legno, carta bibula, ecc., ho fatto dei saggi di controllo, ritenendo che per alcuni germi come per esempio pel vibrione del colera, l'asciugamento non debba essere senza conseguenze nocive alla resistenza e vitalità del germe stesso. Tuttavia i metodi suddetti, anche perchè più spicciativi, furono tutti sperimentati seguendo di massima le norme di cui sopra: imbibizione, asciugamento, lavaggio, semina.

I risultati vengono riassunti nelle seguenti tabelle. Debbo però subito rilevare che essi sono stati costanti coi primi due metodi adoperati, cioè prelevando il materiale dalle culture in brodo o in agar, e diluendolo nella soluzione disinfettante; mentre qualche variazione si è ottenuta coi metodi di fissamento del materiale patogeno sui fili, sulla carta, o sui vetrini immersi nel liquido disinfettante.

Tabella I.

Materiale patogeno diluito nella soluzione disinfettante

Microrganismo	Durata di contatto in minuti	Soluzione di *Lysoform*			
		3 %	5 %	8 %	10 %
Vibrione del Colera	5	+	+	+	—
	10	+	+	—	—
	15	+	+	—	—
	20	+	—	—	—
	25	—	—	—	—
	30	—	—	—	—
Bacillo del Tifo	10	+	+	+	+
	20	+	+	+	+
	30	+	+	—	—
	40	+	—	—	—
	50	—	--	—	—

Tabella II.

Materiale patogeno aderente a solidi, immerso nella soluzione disinfettante

Microrganismo		Durata di contatto in minuti	Soluzione di *Lysoform* 3 %	5 %	8 %	10 %
VIBRIONE DEL COLERA	carta / fili	5	+	+	— / +	—
	carta / fili	10	+	— / +	—	—
	carta / fili	15	+	— / +	—	—
	carta / fili	20	— / +	—	—	—
	carta / fili	25	—	—	—	—
BACILLO DEL TIFO	carta / fili	20	+	+	+	+
	carta / fili	30	+	— / +	—	—
	carta / fili	40	+	—	—	—
	carta / fili	50	+	—	—	—

Risulta da queste esperienze che il vibrione del colera dopo 15 minuti rimane ucciso da una soluzione di *Lysoform* al 5 % e in meno di 5 minuti da una soluzione al 10 %, e che il bacillo del tifo viene ucciso dopo 30 minuti da una soluzione al 5 % e dopo 20 minuti da una soluzione al 10 %.

***

Questi risultati restano ancor più avvalorati se i germi patogeni si cementano con soluzioni di *Lysoform* a temperatura di 37°-38°. Preparate come si è detto le soluzioni a diverso titolo, le provette che le contenevano si mantenevano in termostato per parecchie ore. Indi si seguiva il solito procedimento.

Esponiamo le ricerche fatte in proposito nella seguente tabella.

TABELLA III.

Microrganismo	Durata di contatto in minuti	Soluzione di *Lysoform*			
		3 %	5 %	8 %	10 %
Vibrione del Colera	5	+	+	—	—
	10	—	—	—	--
	15	—	—	—	—
	20	—	—	—	—
Bacillo del Tifo	5	+	+	+	+
	10	+	+	—	—
	15	—	—	—	—
	20	—	—	—	—
	25	—	—	—	—

Da essa tabella si ricava che il potere disinfettante della soluzione di *Lysoform* a 37°-38° viene a raddoppiarsi, inquantochè il vibrione del colera muore dopo 5′ nella soluzione al 5 °/₀ e quasi subito nella soluzione al 10 °/₀. Mentre il bacillo del tifo muore dopo 10 minuti in una soluzione al 5 °/₀ e dopo 5 minuti in una soluzione al 10 °/₀.

Anche per il *Lysoform* adunque resta costante la legge dell'aumento del potere battericida di parecchi disinfettanti, allorquando le soluzioni di essi vengono tenute a una temperatura dai 37° ai 38°; e in ogni modo nel caso del *Lysoform* sotto i 40°, sia per non confondere l'azione nociva di una temperatura più elevata 45°-50° direttamente sui germi, sia per

evitare eventuale modificazione della soluzione del *Lysoform* per evaporazione eccessiva di formaldeide.

***

Questi risultati, per quanto incoraggianti, non possono sfuggire alla consueta critica, cioè che essi sono il prodotto di studi di laboratorio, i quali mentre ci fanno affrontare il problema dell'azione disinfettante di un preparato, azione che del resto è molto vicina al vero, d'altra parte non sempre rispondono del tutto ai casi specifici che si verificano ordinariamente nella pratica delle disinfezioni. E quando poi si tratta di disinfettare i più comuni materiali infettanti, come sarebbero specialmente le dejezioni contenenti i germi che sono causa delle infezioni di cui ci occupiamo, (cioè colera e tifo) non sempre noi siamo al caso di conoscere l'intimo meccanismo d'azione del disinfettante pel materiale ove il germe è contenuto.

Epperò dati che questi studi sul potere disinfettante del *Lysoform* venivano fatti in un'epoca in cui a Catania e provincia erano frequentissimi i casi di colera e potendo avere la opportunità di avere a mia disposizione le feci freschissime di colerosi quasi dopo poche ore (6-12 ore) dall'emissione, stimai opportuno condurre direttamente le ricerche su le feci coleriche.

È naturale che la diagnosi colerica veniva eseguita contemporaneamente in modo che l'accertamento della diagnosi di colera procedeva di pari passo con le ricerche dell'azione disinfettante del *Lysoform* sui germi contenuti delle dejezioni.

Il metodo adoperato era il seguente.

Da un lato le feci venivano inoculate nei terreni in brodo di Duhnam, da cui poi si facevano i passaggi in culture piatte in agar emoglobinica alla Esch; e dall'altro una quantità sempre costante di feci coleriche, 20 c.c. veniva trattata con soluzioni di *Lysoform* al 5 %, al 10 %, in quantità rispettivamente di 10 c.c., di 20 c.c.

Si avevano così dei campioni di feci, nei quali venivano aggiunte quantità di soluzioni a metà del volume, quantità

uguali e quantità doppie del volume di dette feci sottoposte alla ricerca.

Il miscuglio si faceva in una capsula di porcellana a fondo piatto, e per fare esperimenti comparativi, alcune mescolanze si mettevano in termostato a 37°-38°, altre si tenevano in ambiente di 15° appositamente preparato. Dopo il tempo necessario di durata di esperimento, si procedeva alla ricerca del vibrione colerico, prelevando dalla capsula un 1/2 c.c. del miscuglio, versandolo in 10 c.c. di acqua sterilizzata per lavare il materiale e per spogliarlo alla meglio dal disinfettante; prendendo 1/2 c.c. di questo liquido acquoso e versandolo nel brodo di Duhnam e nelle capsule di Esch.

Con questi innesti si seguiva la tecnica ordinaria della ricerca del vibrione come per l'accertamento della diagnosi.

Riferiamo i risultati ottenuti nelle seguenti tabelle 4 e 5.

TABELLA IV.

Tempo di contatto in minuti — Temperatura 15°	20 c.c. di feci colerose 10 c.c. di soluz. *Lysoform*		20 c.c. di feci colerose 20 c.c. di soluz. *Lysoform*		20 c.c. di feci colerose 40 c.c. di soluz. *Lysoform*	
	5 %	10 %	5 %	10 %	5 %	10 %
5	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	—
15	+	+	+	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—

TABELLA V.

Tempo di contatto in minuti Temperatura 37°	20 c.c. di feci colerose con 10 c.c. di soluzione di *Lysoform*		20 c.c. di feci colerose con 20 c.c. di soluzione di *Lysoform*		20 c.c. di feci colerose con 40 c.c. di soluzione di *Lysoform*	
	5 %	10 %	5 %	10 %	5 %	10 %
5	+	+	+	+	+	—
10	+	+	+	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—

I risultati che facilmente si rilevano dalle precedenti tabelle ci permettono di affermare che l'azione disinfettante delle soluzioni di *Lysoform* si esplica abbastanza rapidamente sul vibrione del colera, anche quando esse agiscano sulle dejezioni colerose: e che l'efficacia ne è tanto più valida quanto più è notevole la quantità della soluzione disinfettante aggiunta: e che questa azione è eziandio molto più attiva allorquando le soluzioni vengono portate a temperatura di 37°.

I risultati ottenuti colle feci colerose sono analoghi a quelli ottenuti col vibrione da coltura, senza però poter lasciare inosservato un lievissimo insignificante ritardo d'azione nell'efficacia, molto probabilmente dovuto alla presenza di notevole quantità di materiale albuminoideo, contenuto nelle dejezioni. Tuttavia tale ritardo d'azione, se pur vale la pena di rilevarlo, è da tenersi in considerazione nel risultato finale della disinfezione; inquantochè il potere battericida si è esplicato nelle esperienze di miscugli a volumi uguali nelle soluzioni al 5 e al 10 °/₀ rispettivamente, dopo 10-15 minuti nelle dejezioni tenute a temperatura di 15°, e dopo 10, 5 minuti nelle dejezioni tenute a temperatura di 37°. Ed infine questo termine di tempo è stato abbreviato e ridotto quasi a metà allorquando i miscugli venivano trattati con soluzioni disinfettanti il cui volume era maggiore o il doppio del volume delle dejezioni.

***

Anche su dejezioni d'individui tifosi si praticarono delle esperienze. Ma ai fini della ricerca, piuttosto necessaria a rilevare l'azione delle soluzioni di *Lysoform* nei materiali albuminoidei cioè nelle dejezioni contenenti il bacillo del tifo, si credette per semplicità di esperimento di potere agire su feci diarroiche o su materiali fecali diluiti, previamente sterilizzati, ai quali venivano aggiunte culture di tifo in agar, fresche di 36-48 ore, la cui patina raschiata, veniva diluita emulsionata nell'acqua, e mescolata alle feci.

Così venivano uccisi per via della sterilizzazione tutti i germi contenuti nelle sostanze fecali, per far rimanere quelli del tifo aggiunti, sui quali si voleva esperimentare.

Non rimaneva dubbio quindi sulle forme che più tardi venivano ad isolarsi dal materiale fecale, in seguito all'azione della soluzione del disinfettante, tenuta con esso in contatto per vario tempo. Certo le feci così preparate non rappresentano le condizioni delle feci naturali tifose; ma per i fini della ricerca, l'esperimento si può considerare come molto approssimativo.

È bene avvertire che il quantitativo batterico adoperato era quello della patina diffusa di una coltura in agar diluita in 10 c. c. di acqua; ed il materiale fecale era dato da gr. 5 di feci diluite in c. c. 10 di acqua, in modo d'avere un volume complessivo di 20 c. c. La soluzione disinfettante al solito al 5 al 10 °/₀ v'era mescolata nella quantità di volumi eguali, o al doppio.

Anche per questi esperimenti si teneva conto della temperatura.

TABELLA VI.

Feci infette con b. del tifo.

Tempo contatto in minuti	Alla temperatura di 15°				Alla temperatura di 37°			
	20 c.c. di feci 20 c.c. di soluzione di *Lysoform*		20 c.c. di feci 40 c.c. di soluzione di *Lysoform*		20 c.c. di feci 20 c.c. di soluzione di *Lysoform*		20 c.c. di feci 40 c.c. di soluzione di *Lysoform*	
	5 %	10 %	5 %	10 %	5 %	10 %	5 %	10 %
5	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	—
15	+	+	+	+	+	—	—	—
20	+	+	+	—	—	—	—	—
25	+	+	—	—	—	—	—	—
30	+	—	—	—	—	—	—	—
35	—	—	—	—	—	—	—	—
40	—	—	—	—	—	—	—	—

Dalla tabella si desumono i seguenti risultati, che il potere battericida delle soluzioni di " Lysoform " al 5 °/₀ sulle dejezioni infette di bacillo di tifo, con-

serva quasi lo stesso comportamento come sui bacilli di culture e che le sostanze albuminoidee fecali, come per le feci colerose, non ostacolano che lievemente quest'efficacia; e ciò tanto per le dejezioni tenute a temperatura di 15° quanto per quelle tenute a 37°.

Nel primo caso si ha la morte del bacillo tifico rispettivamente colle soluzioni al 5-10 °/₀ e a volumi eguali in 30-25 minuti; nel secondo caso a 37° dopo 15-10 minuti, e al solito la morte dei germi avviene più rapida se il volume della soluzione disinfettante viene aumentata o raddoppiata.

I risultati di questi esperimenti sono un po' dissimili da quelli di altri autori. E per quanto io tenga conto nelle mie esperienze dei risultati ottenuti soltanto colle soluzioni al 5 e al 10 °/₀, come quelle percentuali che più comunemente vengono adoperate nella pratica, pure non convengo con quei risultati troppo ottimisti di alcuni autori (Galli e Ceradini, Zlatogorow ed altri) che vedono ucciso il vibrione del colera da 20″ a 5′, e il bacillo del tifo in 25″ (Galli e Ceradini) o dopo 10′-15′ (Hollos, Schneider). Nè d'altro lato convengo con i risultati troppo severi d'altri autori che affermano che il vibrione colerico viene distrutto dopo 30 minuti con soluzione al 4 °/₀ (Seydewitz, Valeri, De-Angeli) e il bacillo del tifo dopo 2 ore (Seydewitz, Pfühl). E tanto meno poi convengo con i giudizi ancor più severi di Kramer, Hammer e dello stesso Bormans, per quanto i miei risultati sperimentali collimino di massima con quelli delle ricerche analoghe di quest'ultimo.

Certo non starò a rilevare se il *Lysoform* da alcuni adoperato era quello *puro* o *primo*, anzichè quello *denso greggio*. Nè starò ad indagare il potere di virulenza e di resistenza dei germi scelti dagli autori per i loro esperimenti; nè le cautele di tecnica adoperate. E forse tutto questo non deve essere estraneo alla variabilità dei risultati ottenuti.

Tuttavia se io tengo un po' ai miei risultati, **è pel fatto che essi furono sempre costanti**, e che i germi oltre ad

essere ricavati da infezioni in atto, erano controllati con altri di varia provenienza, e che il *Lysoform* adoperato fu sempre fresco e le soluzioni preparate al momento di doverle cimentare.

Ed è in base a tali miei risultati che io mi sento autorizzato di venire a conclusioni che devono considerarsi favorevoli all'efficacia battericida del *Lysoform*, inquantochè non si possono disconoscere i vantaggi, veramente reali che esso possiede nella disinfezione delle deiezioni colerose e tifose. *Quando una soluzione al 5-10 °/₀ di un disinfettante, distrugge i germi del colera in 15'-10', e quelli del tifo in 30'-25', nei materiali organici, ove essi naturalmente si trovano, e quando questa azione si rafforza notevolmente quasi* **del doppio,** *riducendosi a 10'-5', se le dette soluzioni vengono lievemente riscaldate, non vi devono essere ragioni per contraddirne i vantaggi.* E se a ciò si uniscono i pregi di essere il *Lysoform* un disinfettante che non si altera o si decompone in presenza degli albuminoidi, di essere di facile maneggio, non tossico, di grato odore e facilmente riconoscibile ai suoi caratteri fisici, non saprei perchè esso non deve avere il suo posto onorevole nella pratica delle disinfezioni, sia pubbliche che private.

Forse a me pare che anche coloro che non ne possono disconoscere i vantaggi, si preoccupino un po' troppo per i confronti che ne possono derivare con questo o quell'altro disinfettante. Ma ciò non mi sembra molto obbiettivo, inquantochè di ciascun disinfettante bisogna prendere ciò che esso ci offre di più vantaggioso per la sua utile applicazione, e ciò tanto nei casi di disinfezione pubblica che privata. E se nessuno, adoperando il *Lysoform* e riconoscendone i vantaggi, ha pensato mai di uguagliarlo al sublimato, o tentato di detronizzare questo principe dei disinfettanti, non è meno nel vero se pensa che il *Lysoform* in speciali condizioni, quali sono quelle delle disinfezioni delle feci colerose e tifose può rendere dei servizi quanto il sublimato e forse anche maggiori, senza aver gli svantaggi del sale metallico. E forse il Bormans sarebbe stato meno rigido nei suoi giudizi se non si fosse preoccupato dei confronti.

Ad ogni modo lasciando a studi ulteriori l'ultima parola, ritenendo con Serafini che bisogna, per intelligenza di tutti gli

studiosi, servirci di *un'unità di misura* che regoli i nostri sperimenti, in rapporto all' unità di disinfettante e all' unità di tempo, io per questo disinfettante, i cui vantaggi anche fin d'ora non posso disconoscere, mi permetto venire alle seguenti conclusioni:

1.° — Le soluzioni di *Lysoform* al 5 al 10 °/₀ uccidono rispettivamente il vibrione del colera in 15-5 minuti e il bacillo del tifo in 30-20 minuti.

2.° — Le soluzioni di *Lysoform* alla temperatura di 37°-38°, al titolo sopradetto, raddoppiano il potere battericida, ottenendo la morte del vibrione in 5 minuti o anche meno, e del tifo in 10-5 minuti.

3.° — L'azione disinfettante del *Lysoform* si mantiene quasi uguale nelle feci colerose e tifose, non modificando che lievemente il suo potere battericida in presenza di materiali albuminoidei.